

Artigo de revisão bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina

**EFEITO TERAPÊUTICO DO CONSUMO TABÁGICO NA DOENÇA DE
BEHÇET.**

PAPEL DA NICOTINA COMO ALTERNATIVA AO TABAGISMO.

Ridhi Ratilal Ranchor

Orientadora

Ana Cristina Cerveira Campar Almeida

Porto 2017

Artigo de revisão bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

EFEITO TERAPÊUTICO DO CONSUMO TABÁGICO NA DOENÇA DE *BEHÇET*.

PAPEL DA NICOTINA COMO ALTERNATIVA AO TABAGISMO.

Ridhi Ratilal Ranchor¹

Orientadora

Ana Cristina Cerveira Campar Almeida²

Porto 2017

¹Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Endereço eletrónico: ridhiranchor@hotmail.com

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) - Universidade do Porto

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira, nº228, 4050-313 Porto

² Especialista em Medicina Interna, Assistente Hospitalar em Medicina Interna no Centro Hospitalar do Porto, Assistente convidada do ICBAS

Afiliação: Centro Hospital do Porto, Hospital Santo António.

Endereço: Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto.

Resumo

Introdução: A doença de *Behçet* é uma vasculite sistêmica rara, que apresenta um curso crónico recidivante. As lesões mucocutâneas são o seu *hallmark*. O tabagismo constitui um problema de saúde pública *major* e que acarreta elevada morbilidade e mortalidade.

Objetivos: Pretende-se explorar o efeito terapêutico do tabaco sobre as manifestações da doença de *Behçet* bem como os efeitos negativos que acarreta em outras manifestações da doença. O potencial papel da nicotina como alternativa ao tabagismo e os efeitos adversos que podem resultar do seu consumo prolongado foram também revisados.

Desenvolvimento: O tabaco pode influenciar as manifestações da doença de *Behçet* isoladamente ou em associação a fatores genéticos (antigénio leucocitário humano B51 e glutathione S-transferase M1 *null polymorphism*). Exerce um efeito terapêutico nas úlceras orogenitais, lesões pápulo-pustulosas e na artrite crónica. Contudo, aumenta o risco de edema macular cistóide, oclusão venosa retiniana, uveítes, eritema nodoso, doença coronária, neuro-*Behçet* crónica progressiva, acidentes vasculares cerebrais, lesões vasculares e manifestações gastrointestinais. Em lesões mucocutâneas refratárias ao tratamento convencional a nicotina induz a sua remissão. Contudo, o seu uso prolongado pode ter repercussões nos sistemas cardiovascular, reprodutor, gastrointestinal, endócrino e metabólico, a nível ocular e pode atuar como um promotor tumoral.

Conclusão: O tabaco não é uma opção viável como agente terapêutico. Os benefícios da nicotina na doença de *Behçet*, em alternativa ao tabagismo, necessitam de validação em estudos alargados e randomizados e o seu uso carece de regulação e deve ser supervisionado. A descoberta da via anti-inflamatória da nicotina, mediada pelos recetores nicotínicos de acetilcolina $\alpha 7$ pode levar ao desenvolvimento de um tratamento mais dirigido, minimizando os seus efeitos adversos. O efeito terapêutico do tabaco e da nicotina pode também ser atribuído à diminuição dos níveis de *stress*, reduzindo consequentemente, um dos principais *triggers* das exacerbações da doença.

Palavras-Chave: Doença de *Behçet*, tabaco, nicotina, lesões mucocutâneas, efeito terapêutico, efeito anti-inflamatório, HLA-B51, GSTM1 *null polymorphism*

Abstract

Introduction: Behçet's disease is a rare systemic vasculitis, which presents a chronic relapsing course. Mucocutaneous lesions are its hallmark. Smoking is a major public health problem and causes high morbidity and mortality.

Objectives: To explore the therapeutic effect of tobacco on the manifestations of Behçet's disease as well as its negative effects in other manifestations of the disease. The potential role of nicotine as an alternative to smoking and the adverse effects that may result from its prolonged use have also been reviewed.

Development: Tobacco can influence the manifestations of Behçet's disease alone or in association with genetic factors (human leukocyte antigen B51 and glutathione S-transferase M1 null polymorphism). It exerts a therapeutic effect on orogenital ulcers, papulopustular lesions and chronic arthritis. However, it increases the risk of cystoid macular edema, retinal venous occlusion, uveitis, erythema nodosum, coronary disease, chronic progressive neuro-Behçet, cerebrovascular accidents, vascular lesions, and gastrointestinal manifestations. In mucocutaneous lesions refractory to conventional treatment, nicotine induces remission. However, its prolonged use may have repercussions on cardiovascular, reproductive, gastrointestinal, endocrine and metabolic systems, ophthalmological consequences, and may act as a tumor promoter.

Conclusion: Tobacco is not a viable option as a therapeutic agent. The benefits of nicotine in Behçet's disease, as an alternative to smoking, require validation in large, randomized studies and its use lacks regulation and should be supervised. The discovery of the nicotine anti-inflammatory pathway mediated by the nicotinic acetylcholine $\alpha 7$ receptors may lead to the development of a target treatment, minimizing side effects. The therapeutic effect of tobacco and nicotine can also be attributed to decrease in stress levels, thereby reducing one of the major exacerbations triggers of disease.

Key words: Behçet's disease, tobacco, nicotine, mucocutaneous lesions, therapeutic effect, anti-inflammatory effect, HLA-B51, GSTM1 null polymorphism

Lista de abreviaturas e siglas

ACTH- Hormona adrenocorticotrópica
ADN- Ácido desoxirribonucleico
AIT- Acidente vascular cerebral
bcl-2- Célula B de linfoma 2
CD- *Clusters* de diferenciação
CV- Cardiovascular
DAI- Doenças autoimunes
DCV- Doenças cardiovasculares
DM- Diabetes *mellitus*
DPOC- Doença pulmonar obstrutiva crónica
DRGE- Doença de refluxo gastroesofágico
DUP- Doença ulcerosa péptica
erk- Quinase regulada por sinal extracelular
FSH- Hormona folículo-estimulante
GM-CSF- Fator estimulador de colónias de granulocítico-macrofágicos
GSTM1- Glutathione S- transferase M1
GWAS- *Genome wide association studies*
HLA- Antígeno leucocitário humano
ICBD- *International Criteria for Behçet's Disease*
IFN- Interferão
Il-Interleucina
ISG- *International Study Group*
MAPK- Proteína cinase ativada por mitogénio
NNK- 4- (metilnitrosoamino)-1, (3-piridil)-1 butanona
NNN- N-nitrosornicotina
OMS- Organização mundial de saúde
PKC- Proteína quinase C
Rachn- Recetores nicotínicos de acetilcolina
SNC- Sistema nervoso central
StAR- Proteína reguladora aguda da esteroidogénese
STAT- Transdutor de sinal e ativador de transcrição

TNF- Fator de necrose tumoral

VEGF- Fator de crescimento vascular endotelial

Índice

Resumo	3
Palavras- chave	3
<i>Abstract</i>	4
<i>Key words</i>	4
Lista de abreviaturas e siglas	5
Introdução	8
Doença de <i>Behçet</i>	8
Consumo tabágico	11
Pertinência do tema e objetivos	12
Material e métodos	14
Desenvolvimento	15
Efeito terapêutico do consumo tabágico na doença de <i>Behçet</i>	15
Papel da nicotina como alternativa ao tabagismo	17
Conclusão	22
Bibliografia	24

Introdução

Doença de *Behçet*

A doença de *Behçet* é considerada uma vasculite sistêmica rara que afeta vasos de todos os tipos (veias e/ou artérias) e calibres (grande, médio e/ou pequenos) [1, 2, 3, 4].

Apresenta uma prevalência mundial entre 0.1/1000 a 1/10000 e é mais comum na rota da seda, isto é, no território compreendido entre a Ásia ocidental e a região mediterrânica [1, 5, 6, 7]. A Turquia é o país que apresenta maior prevalência [1, 8, 9]. Globalmente ambos os sexos são igualmente afetados pela doença de *Behçet* [9]. A idade típica de apresentação situa-se entre os 20 aos 40 anos [9, 10,11].

A apresentação inicial da doença ocorre, habitualmente, com lesões mucocutâneas (especialmente, lesões aftosas orais e/ou genitais ulceradas), consideradas o *hallmark* da doença. Segue posteriormente um curso crónico e recidivante com exacerbações, de intensidade variável e com uma frequência e duração imprevisíveis, e remissões [1, 12, 13, 14, 15].

As lesões aftosas orais ulceradas apresentam uma prevalência de 97%-100% e são observadas em todos os doentes em algum momento do curso da doença. Inicialmente são bem definidas, circulares, eritematosas e ligeiramente elevadas. Posteriormente evoluem para úlceras cobertas por uma pseudomembrana branco-acinzentada ou com uma base amarelada central e necrótica, rodeada por um halo eritematoso [14, 16, 17]. As lesões aftosas genitais ulceradas são semelhantes às úlceras orais, porém são mais largas, mais profundas e cicatrizam com maior dificuldade [14, 18]. As lesões cutâneas mais comuns são as lesões pápulo-pustulosas [13, 16, 19]. No entanto, devemos ter em mente que tanto a apresentação inicial como as exacerbações se podem manifestar com o envolvimento de qualquer órgão/sistema [1, 13]. Assim, pode também haver envolvimento ocular (o envolvimento da úvea e/ou retina é comum), articular (artrite não erosiva e não deformante monoarticular ou oligoarticular), gastrointestinal (inflamação e ulceração da mucosa, com envolvimento semelhante à doença intestinal inflamatória), cardiovascular, respiratório, renal, genitourinário e/ou do sistema nervoso, associados ou não a sintomas constitucionais. O envolvimento do sistema nervoso central (*neuro-Behçet*) é mais frequente que o periférico, afetando o parênquima em 80% dos casos e pode ser agudo ou crónico [1, 2, 13, 20, 21, 22, 23, 24, 25].

A etiologia permanece desconhecida, porém a evidência atual sugere tratar-se de um processo auto-inflamatório [10]. Existe uma interação complexa entre suscetibilidade genética e fatores ambientais, que atuam como *triggers* [1, 2, 5, 26, 27, 28].

A maioria dos casos de doença de *Behçet* são esporádicos. Contudo, encontram-se descritas famílias com múltiplos membros afetados, conhecido como *familial clustering* [2]. O HLA-B51 é o fator genético de suscetibilidade *major* para a doença de *Behçet* [29, 30, 31]. Os fatores ambientais, especialmente agentes infecciosos, têm vindo a ser implicados como agentes iniciadores de uma resposta imunitária. Após a resolução da infecção esta resposta é perpetuada por um fenómeno de mimetismo molecular, exibindo uma reação cruzada com epítomos das proteínas humanas [1, 2, 5, 26, 28].

Atualmente, a imunodesregulação é cada vez mais implicada na patogénese desta doença [28]. Nos indivíduos com doença de *Behçet*, a atividade celular e humoral no sangue periférico encontra-se aumentada [32]. As células T ($\alpha:\beta$ e $\gamma:\delta$) exibem uma hipersensibilidade a vários antígenos ocorrendo, consequentemente, a sua ativação após a exposição aos mesmos. Isto resulta na libertação de citocinas, do interferão γ ($\text{IFN}\gamma$) e do fator de necrose tumoral α ($\text{TNF}\alpha$) e na ligação CD40-CD154 que leva à ativação de monócitos. Adicionalmente à libertação de $\text{IFN}\gamma$ e $\text{TNF}\alpha$, a libertação da interleucina (il)-8 e da il-17 leva à ativação dos neutrófilos. A libertação de citocinas pró-inflamatórias (il-6, il-8, $\text{TNF}\alpha$ e GM-CSF) por parte dos monócitos também contribui para a ativação dos neutrófilos. A libertação de il-12 pelos monócitos leva a uma resposta predominantemente Th1. Esta consiste em linfócitos que secretam predominantemente, mediadores pró-inflamatórios como il-2, il-6, il-8, il-12, il-18, $\text{IFN}\gamma$ e $\text{TNF}\alpha$. A il-6 e, principalmente, a il-8 parecem fornecer os principais sinais pró-inflamatórios nesta doença [32,33]. A expansão das células Th17 e supressão das células T reguladoras também foi detetada nos indivíduos com doença de *Behçet* [32]. *Genome wide association studies* (GWAS) também sugeriu a associação da doença de *Behçet* com il-10, o recetor da il-23 e STAT4, o que corrobora com o papel da imunodesregulação nesta doença [29].

Assim sendo, em indivíduos geneticamente suscetíveis ocorre a ativação da imunidade inata e adquirida por meio de vários agentes patogénicos. Consequentemente, a resposta é perpetuada devido a uma imunodesregulação. As células T $\gamma:\delta$ ativadas fornecem sinais de ativação e sobrevivência para os monócitos e neutrófilos recrutados, o que explica os sinais inflamatórios crónicos. Os neutrófilos parecem ser responsáveis pelo dano por meio da produção de espécies reativas de oxigénio [32].

Também parece haver, na doença de *Behçet*, uma disfunção endotelial resultante do processo vasculítico [34, 35]. Trata-se de uma característica importante e frequente, mesmo nos doentes sem envolvimento vascular proeminente [36]. Existe evidência que o *stress* pode influenciar o início das manifestações clínicas da doença bem como o seu curso clínico, sendo um dos principais *triggers* das recorrências [37, 38].

Não existe nenhum teste diagnóstico específico para a doença de *Behçet*. Este baseia-se no quadro clínico e na exclusão de outros diagnósticos diferenciais [39]. Os critérios clínicos mais usados são os do *International Study Group* (ISG)- tabela I [40]. Foram criados em 1990 e têm excelente especificidade, mas uma fraca sensibilidade [41, 43].

Tabela I: Critérios de diagnóstico da Doença de *Behçet* - ISG (1990)

Obrigatório: <u>Úlceras orais recorrentes</u> (úlceras <i>minor</i> , <i>major</i> ou herpetiformes observadas pelo médico ou pelo paciente, recorrendo pelo menos 3 vezes num período de 12 meses).
Mais dois ou mais dos seguintes:
<u>Úlceras genitais recorrentes</u> ou cicatrizes, observadas pelo médico ou pelo paciente.
<u>Lesões oculares:</u> uveíte anterior, uveíte posterior, as células no vítreo ao exame lâmpada de fenda ou vasculite retiniana, observada pelo oftalmologista.
<u>Lesões cutâneas:</u> eritema nodoso observado pelo médico ou paciente, pseudofoliculite, lesões pápulo-pustulosas ou nódulos acneiformes observados pelo médico em pacientes pós-adolescentes que não recebem tratamento com corticosteroides.
<u>Teste de Patergia:</u> observado pelo médico em 24-48 horas.

Adaptado da fonte Saadoun and Wechsler Orphanet Journal of Rare Diseases 2012, 7:20.

Em 2006, surgiram outros critérios, os *International Criteria for Behçet's Disease* (ICBD), com maior sensibilidade e especificidade que os anteriores- tabela II [41, 43]. Três ou mais pontos fazem o diagnóstico de doença de *Behçet* [42].

Tabela II: Critérios de diagnóstico da Doença de *Behçet* - ICBD (2006)

Úlceras orais	1 Ponto
Manifestações cutâneas	1 Ponto
Manifestações vasculares (trombose arterial e venosa, aneurisma)	1 Ponto
Teste patergia	1 Ponto
Úlceras genitais	2 Pontos
Lesões oculares	2 Pontos

Adaptado da fonte Davatchi et al Clinical Rheumatology, 2010 Vol.29 (8)

Consumo tabágico

O consumo e dependência tabágicas constituem problemas de saúde pública mundiais [44]. São a principal causa evitável de doença, incapacidade e morte prematura nos países desenvolvidos [45]. O consumo de tabaco é já considerado uma pandemia: segundo a organização mundial de saúde (OMS) foi responsável por 100 milhões de mortes no século XX, a nível mundial, estimando-se que em 2030 seja responsável por 10 milhões de mortes anuais [46].

Cerca de 80% da morbilidade e mortalidade associadas ao consumo tabágico resulta de doenças cardiovasculares (DCV), da neoplasia do pulmão e da doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) [47]. Surgiu, também, evidência da relação causal entre o tabaco e outras neoplasias, tanto hematológicas como de órgão sólidos [48]. Adicionalmente, os fumadores apresentam um risco acrescido de desenvolverem asma (particularmente no sexo feminino), doença ulcerosa péptica (DUP), diabetes *mellitus* (DM) tipo 2, osteoporose, doença periodontal, distúrbios reprodutivos, infeções e complicações pós-operatórias [49, 50, 51, 52, 53, 54, 55].

Assim sendo, a cessação tabágica acarreta benefícios para a saúde. A desabituação tabágica, em qualquer idade, associa-se a um decréscimo do risco excessivo de mortalidade [56, 57]. Nas primeiras 24 horas, há uma normalização da frequência cardíaca e da pressão arterial. No primeiro ano após a cessação tabágica ocorre a redução para metade do risco de eventos cardiovasculares e 5-15 anos após pode ocorrer a reversão completa do risco de DCV. Cerca de 10 anos após a cessação, o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão reduz 30-50%. Apresenta, também, benefícios em indivíduos com um cancro do pulmão já diagnosticado, aumentado a sua sobrevida e diminuindo o risco de desenvolver uma segunda neoplasia primária do pulmão [47]. Nas restantes neoplasias associadas ao consumo tabágico, 10 anos após a cessação

o risco é equiparável ao risco de não fumadores [58]. Apresenta também um impacto na DPOC, desacelerando a sua progressão [42].

Vários estudos têm descrito desvantagens resultantes da desabituação tabágica, mas que são largamente ultrapassadas pelos benefícios inerentes à cessação [59].

A síndrome resultante da abstinência tabágica resulta da dependência física e psicológica induzida pela nicotina. Desenvolvem-se sinais e sintomas afetivos (ansiedade, anedonia, depressão, disforia, hiperalgesia e irritabilidade), somáticos (tremores, bradicardia, desconforto gastrointestinal e aumento do apetite) e/ou cognitivos (dificuldade de concentração e perda de memória) nas primeiras 4 a 24 horas de abstinência. Estes sintomas atingem um pico por volta do terceiro dia e, normalmente, cedem ao fim de 3 a 4 semanas [60]. O aumento de peso resulta do aumento da ingestão calórica e da atividade da lipase lipoproteica e da diminuição do estado metabólico e da atividade física. Constitui uma preocupação, principalmente para as mulheres, e que é responsável por um grande número de recidivas no sexo feminino [61]. Os fumadores com história de depressão e que cessam o consumo tabágico possuem um risco acrescido de desenvolverem um episódio de depressão major. Este risco permanece elevado por 6 meses [62]. Contudo, nos fumadores que não manifestem sintomas depressivos no momento da cessação, o risco de depressão com a desabituação não parece estar elevado [63]. Existe, também, um risco aumentado desenvolvimento de úlceras orais após a desabituação tabágica [64].

Pertinência do tema e objetivos

A doença de *Behçet* é uma vasculite multisistémica rara que afeta vasos de todos os tipos e calibres. Apresenta um curso crónico recidivante com elevada morbilidade associada.

Os efeitos adversos associados ao consumo tabágico são bem conhecidos e documentados. Contudo, alguns estudos têm vindo a difundir a ideia de que o consumo tabágico poderá apresentar um papel benéfico nas manifestações mucocutâneas da doença de *Behçet*.

No entanto, o tabagismo não deve ser encorajado dado que pode agravar outras manifestações clínicas da doença e porque apresenta várias consequências negativas para a saúde, que se sobrepõem o seu papel benéfico. Assim, como alternativa ao consumo tabágico, o efeito terapêutico da nicotina tem vindo a ser investigado nos doentes com esta patologia.

Esta revisão bibliográfica tem como objetivo explorar os efeitos benéficos do consumo tabágico sobre as manifestações da doença de *Behçet* bem como os seus efeitos negativos noutras

manifestações da doença. O potencial papel terapêutico da nicotina como alternativa ao tabagismo e os efeitos adversos que podem resultar do seu consumo prolongado foram também revisados.

Material e métodos

A realização deste artigo de revisão baseou-se numa pesquisa bibliográfica através da biblioteca digital do Centro hospitalar do Porto que disponibiliza à comunidade académica e a todos os profissionais de saúde o acesso ilimitado e permanente aos textos integrais de milhares de revistas científicas.

Esta plataforma *online* permitiu o acesso a bases de dados eletrónicas como *Pubmed*, *Medline complete*, *Clinical Key*, *UpToDate*, *Ovid Full Text* e *Google Scholar*.

A pesquisa foi iniciada com as seguintes palavras-chave: *Bechet's disease*, *clinical manifestations of Bechet's disease*, *pathophysiology of Bechet's disease*, *etiology of Bechet's disease*, *differential diagnosis of Bechet's disease*, *diagnosis of Bechet's disease*, *treatment of Bechet's disease*, *tobacco use epidemiology*, *adverse effects of smoking*, *hazardous effects of tobacco use*, *beneficial effects of tobacco use*, *therapeutic effect of tobacco use*, *smoke cessation*, *beneficial effects of smoke cessation*, *adverse effects of smoke cessation*, *smoking and Bechet's disease*, *effects of tobacco in Bechet's disease*, *effects of tobacco in clinical manifestations Bechet's disease*, *adverse effects of cigarette smoke in Bechet's disease*, *nicotine use in Bechet's disease*, *nicotine effects in Bechet's disease*, *nicotine hazardous effects*.

Os artigos encontrados foram, posteriormente, selecionados pela sua relevância, e conteúdo. Não foram incluídos os artigos publicados antes do ano de 1950 e foi dada maior relevância aos artigos publicados nos últimos 17 anos. Foram incluídos, nesta revisão bibliográfica, estudos realizados *in vivo*, *in vitro* e em animais.

Desenvolvimento

Efeito terapêutico do consumo tabágico na doença de *Behçet*

A incidência da estomatite aftosa recorrente é menor em fumadores do que em não fumadores [65]. Alguns fumadores experienciam um aparecimento ou agravamento das úlceras aftosas orais após a cessação tabágica. *Marakoglu et al.* confirmaram que a estomatite aftosa recorrente consistia numa complicação resultante da desabituação tabágica [66]. Assim, o tabaco pode apresentar efeitos terapêuticos no tratamento da estomatite aftosa recorrente refratária ao tratamento convencional, tal como descrito por *Bookman* [67].

Na colite ulcerosa existe evidência que o consumo tabágico resulta numa melhoria das manifestações clínicas da doença. Além disso, o tabaco reduziu a produção de citocinas pró-inflamatórias, também implicadas na doença da *Behçet* e em outras doenças autoimunes (DAI) [68].

No caso da doença de *Behçet*, tal como na estomatite aftosa recorrente, os fumadores apresentam uma menor incidência de úlceras aftosas orais e genitais que os não fumadores [69]. Logo, surge a hipótese de o consumo tabágico apresentar um efeito benéfico nos indivíduos com doença de *Behçet*, comprovada por *Silveira et al.* [70]. *Soy et al.* conduziram um estudo prospetivo em que uma semana após a cessação tabágica 65.9% (isto é, 31 indivíduos de um total de 47 fumadores com doença de *Behçet*) desenvolveram úlceras aftosas orais. Dois indivíduos desenvolveram úlceras genitais e outros dois desenvolveram eritema nodoso. Em doentes não fumadores, apenas 25% desenvolveram úlceras aftosas orais, no mesmo período. Portanto concluiu-se que a cessação tabágica podia ativar os sintomas mucocutâneos na doença de *Behçet*, em particular, lesões aftosas orais [69]. Esta relação inversa entre tabaco e lesões aftosas orais foi também demonstrada por meio de um estudo retrospectivo que contou com a participação de 118 indivíduos com doença de *Behçet* [71].

Kaklamani et al. realizaram um pequeno estudo prospetivo em que 5 doentes, de um total de 8 com doença de *Behçet*, demonstraram um agravamento de lesões aftosas orais e/ou genitais com a desabituação tabágica. Destes, 4 voltaram a fumar com remissão das lesões. O outro elemento, bem como dois doentes com *Behçet*, não fumadores, mas com lesões mucocutâneas colocaram um *patch* de nicotina com remissão das lesões [68]. *Ciancio et al.* descreveram 5 casos de indivíduos com doença de *Behçet*, ex-fumadores e com lesões mucocutâneas refratárias ao

tratamento convencional, e que colocaram um *patch* de nicotina. Quatro doentes obtiveram remissão das lesões em 6 meses [72].

Em suma, a baixa incidência de lesões mucocutâneas em fumadores e o seu reaparecimento ou agravamento após a desabituação tabágica sustenta a hipótese de o tabaco apresentar um efeito terapêutico da doença de *Behçet*. Dado que a remissão das lesões mucocutâneas é também observada em doentes com *Behçet* tratados com nicotina, surge a hipótese de a nicotina constituir um agente terapêutico nesta patologia, em alternativa ao consumo tabágico.

O efeito do tabagismo encontra-se melhor estudado sobre as lesões mucocutâneas da doença de *Behçet*. Contudo, o seu impacto sobre outras manifestações também tem vindo a ser estudado, quer isoladamente, quer em associação a fatores genéticos- HLA-B51 e glutathione S-transferase M1 (GSTM1) *null polymorphism* [73, 74].

Os doentes com *Behçet* com GSTM1 *null polymorphism* estão mais suscetíveis aos efeitos do fumo do tabaco uma vez que GSTM1 influencia a capacidade de destoxificação dos produtos químicos do fumo de tabaco. Nos fumadores com *Behçet*, o GSTM1 *null polymorphism* associa-se a uma redução do risco de artrite crónica [74].

Lin et al. e *Yuen et al.* demonstraram que os fumadores apresentam um risco de desenvolvimento de uveítes aproximadamente duas vezes superior aos não fumadores [75, 76]. Outros estudos demonstraram a associação entre o tabagismo e a severidade da uveíte [75]. *Bilgin et al.* realizaram um estudo retrospectivo com 202 doentes com *Behçet* no qual concluíram que o tabagismo não apresenta um efeito negativo nos achados clínicos e no prognóstico das uveítes mas quando associado ao HLA-B51 afeta negativamente as uveítes [73, 77]. Foi descrito que o edema macular cistóide era mais frequente em fumadores com *Behçet* [73]. Foi também demonstrada uma associação significativa entre tabagismo e risco de oclusão venosa retiniana nesta patologia [78].

O eritema nodoso parece estar associado ao HLA-B51 e ao tabagismo, porém *Tuna et al.* reportaram que o fator implicado nesta manifestação era o tabaco (o eritema nodoso ocorre mais em indivíduos HLA-B51 positivos dado que os fumadores são, mais frequentemente, HLA-B51 positivos) [73]. GSTM1 *null polymorphism* reduz o risco de lesões pápulo- pustulosas nos doentes com *Behçet*, sendo esta redução duas vezes maior em fumadores [74].

Hirohata descreveu que a positividade para o alelo HLA-B51 associado ao tabagismo e ao sexo masculino estava fortemente associado à doença de *Behçet* crónica progressiva com envolvimento neurológico [73]. *Aramaki et al.* também reportaram que a positividade para HLA-B51 e o tabagismo, em associação, constituem fatores de risco para neuro-*Behçet* crónica e progressiva [25]. O processo vasculítico é uma causa predisponente importante de vasoespasmos e

o tabagismo nesta patologia pode causar acidentes isquêmicos transitórios (AITs) por meio de mecanismos vasoespásticos [25].

Tal como na população em geral, nos doentes com *Behçet* os fatores de risco CV tradicionais, como é o caso do tabagismo, constituem preditores independentes de doença arterial coronária [80]. Um estudo envolvendo doentes da Coreia revelou que os fumadores com *Behçet* desenvolvem mais frequentemente lesões vasculares que os não fumadores [81]. Num estudo envolvendo doentes do Egipto, os fumadores e não fumadores não apresentaram diferença estatisticamente significativa no que diz respeito ao espessamento da íntima e média [82]. O *GSTM1 null polymorphism* associa-se a um aumento do risco de vasculite de grandes vasos, em homens fumadores, e a um maior risco de insuficiência venosa nos fumadores [74].

Por último, o tabagismo associa-se a um maior risco de desenvolvimento de lesões gastrointestinais [81].

Papel da nicotina como alternativa ao tabagismo

O tabaco é formado por mais de 4500 substâncias tóxicas, das quais algumas são considerados carcinogénicos. A nicotina é um dos principais constituintes do tabaco, mas que não é considerada um agente carcinogénico. É a substância responsável pela dependência e pode apresentar efeitos biológicos [83]. Os efeitos biológicos da nicotina são mediados pela sua ligação estereoselectiva a recetores nicotínicos de acetilcolina (Rachn). Estes recetores são proteínas pentaméricas constituídas por 5 subunidades. Dispõem-se em torno de um canal iónico que é responsável pelo transporte de catiões (cálcio, sódio e potássio) quando se encontra ligado a um agonista (nicotina ou acetilcolina). Foram identificadas 17 subunidades, estando diferentes subtipos de recetores localizados em diferentes regiões do organismo [84]. No sistema nervoso central (SNC), a estimulação dos Rachn conduz à libertação de vários neurotransmissores, nomeadamente a dopamina. Na glândula suprarrenal, a nicotina estimula a libertação de cortisol e catecolaminas por parte do córtex e medula, respetivamente [83].

A nicotina transdérmica pode constituir um potencial agente terapêutico em doenças da pele que cursam com inflamação epitelial, como é o caso das lesões mucocutâneas da doença de *Behçet*. Este papel da nicotina é mediado por vários mecanismos:

1. Via anti-inflamatória da nicotina

A nicotina atua nos RACHN das células endoteliais e epiteliais da pele [85, 86]. O TNF α constitui um mediador importante da inflamação epitelial, libertado pelas células inflamatórias locais [83]. Com o uso de agonistas dos RACHN verificou-se uma diminuição dos níveis de TNF α , *in vitro*, em resposta a endotoxemia [87]. *In vivo*, a estimulação do nervo vago levou à redução dos níveis de TNF, il-1 β , il-6, il-18 mas não de il-10. Porém, a estimulação do nervo vago em ratos sem o RACHN $\alpha 7$ não reduziu a libertação de TNF α em resposta a endotoxemia. Portanto, sugere-se que o RACHN $\alpha 7$ seja o recetor responsável pelo efeito anti-inflamatório da nicotina [88].

2. Supressão da inflamação cutânea e modulação da resposta imunitária local

A il-6 e a il-8 parecem fornecer os principais sinais pró-inflamatórios na doença de *Behçet*. *Kalayciyan et al.* evidenciaram, *in vitro*, que a nicotina reduzia a libertação de il-6 por parte de queratinócitos e células endoteliais da derme e a libertação de il-8 por parte das células endoteliais da derme [89]. Ocorre também a redução de outras citocinas pró-inflamatórias (il-1 β , il-2, TNF α e IFN γ) e uma redução da resposta ao IFN γ . Há, igualmente, uma supressão da maturação das células apresentadoras de antígenos e uma diminuição da actividade dos neutrófilos e macrófagos. Ocorre ainda a indução das células T em anergia. Verifica-se, também, uma redução da circulação de imunoglobulinas [90].

3. Diferenciação, adesão e migração de queratinócitos

A ligação de um agonista ao RACHN leva ao influxo de cálcio e, consequentemente, à diferenciação dos queratinócitos. Há um aumento da expressão de marcadores como a queratina-10, a involucrina, a filagrina e a transglutaminase tipo 1. Os agonistas também aumentam a adesão dos queratinócitos, impedindo a descamação. Promovem a migração, necessária à epitelização [91,92]. A nicotina é um potente estímulo angiogénico levando a libertação de fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), quer pelos queratinócitos quer pelas células endoteliais da derme [89].

4. Estimulação da libertação da hormona adrenocorticotrópica (ACTH), e consequentemente de cortisol, que suprime as vias inflamatórias [83].

In vitro, a incubação de queratinócitos e células endoteliais com sangue de doentes com *Behçet* revelou um aumento marcado da libertação de Il-8. A il-8 é uma citocina quimiotática específica

para o recrutamento de neutrófilos [89]. Este achado coaduna-se com o elevado número de neutrófilos ativados nas lesões mucocutâneas de onde resulta, por vezes, a designação da doença de *Behçet* como dermatose neutrofilica [29]. Portanto, em doenças como o *Behçet*, em que a inflamação é dominada por neutrófilos, a nicotina pode apresentar um papel benéfico ao reduzir a libertação de il-8, limitando o dano mucocutâneo. A diferenciação, adesão e migração dos queratinócitos em associação a angiogénese favorecem a cicatrização e resolução das lesões.

Assim sendo, a nicotina pode ser usada para obter a remissão de lesões mucocutâneas na doença de *Behçet*, particularmente em ex-fumadores com lesões refratárias ao tratamento convencional. Porém, a evidência existente é baseada em estudos realizados num número pequeno de doentes. Como tal, são necessários grandes estudos randomizados para avaliar benefício da terapêutica com nicotina na doença de *Behçet*.

O efeito da nicotina transdérmica no tratamento das lesões mucocutâneas deve ser diferenciado do efeito do fumo do tabaco inalado, resultante do consumo de tabaco. O fumo do tabaco pode apresentar um efeito anti-inflamatório bem como um efeito pró-inflamatório. O efeito anti-inflamatório é mediado principalmente pela nicotina, anteriormente já descrito. Para além da nicotina, há também o contributo de outros compostos como a hidroquinona e o monóxido de carbono para este efeito [90].

No consumo tabágico crónico verifica-se um efeito pró-inflamatório que resulta de:

1. Aumento das proteínas de fase aguda e citocinas pró-inflamatórias [90];
2. Aumento dos radicais livres que interagem com o ácido desoxirribonucleico (ADN) [90];
3. Aumento da atividade das células dendríticas mediada pela imunidade adaptativa [90];
4. Aumento dos níveis circulantes de polimorfonucleares e células T [90];
5. Aumento dos níveis circulantes de células B auto-reativas [90];
6. Libertação de antígenos intracelulares via hipóxia tecidual ou necrose celular mediada por toxinas [90].

A terapia com nicotina é mais segura que o consumo tabágico. Esta reduz as taxas de consumo tabágico e as recaídas nos indivíduos que já cessaram o consumo, auxiliando a manutenção na abstinência [83,84]. No entanto existem preocupações quanto aos efeitos adversos que podem surgir do seu consumo prolongado [93].

A nicotina é o constituinte do tabaco responsável pela adição. Contudo, preparações de libertação lenta não são aditivas uma vez que a adição resulta do pico súbito da concentração de nicotina que leva a ativação súbita e rápida dos Receptores [83, 84].

É um agente simpaticomimético, pelo que aumenta o inotropismo e cronotropismo, eleva a pressão arterial e causa vasoconstrição coronária e cutânea [94, 95]. Além disso, é também um potente estímulo angiogénico [89]. Assim, teoricamente, era esperado que a nicotina precipitasse isquemia cardíaca e que resultasse na progressão da aterosclerose. Todavia não foi demonstrada a associação entre o uso de nicotina e um risco acrescido de eventos cardiovasculares nos doentes com DCV de alto risco [97]. A maioria dos estudos em humanos não sugere que a nicotina exerça um efeito adverso no perfil lipídico [95].

Apesar de não ser considerada um agente carcinogénico, a evidência atual aponta que se trate de um promotor tumoral. A nicotina ativa a via de sinalização MAPK, especialmente a via erk2. Consequentemente há um aumento de bcl-2, inibindo a apoptose das células pulmonares cancerígenas. Por outro lado, interfere com o bloqueio da atividade da via erk2 e da PKC induzido pelos agentes anti-neoplásicos. Ocorre a formação de metabolitos de ácido araquidónico que promovem a proliferação do tumor e verifica-se a estimulação da angiogénese acelerando o crescimento do tumor [98]. Apresenta uma ação sinérgica com outros agentes carcinogénicos e pode sofrer nitrosaminação na cavidade oral, levando à formação de *n-nitrososornicotina* (NNN) e 4- (metilnitrosoamino)- 1, (3-piridil)- 1 butanona (NNK) que são fortemente carcinogénicos [99,100]. Nos estadios precoces do tumor, para além de promover a sua proliferação, diminui a inibição de contato e a dependência da matriz extracelular para a sua sobrevivência [101].

No que diz respeito ao sistema reprodutor masculino, apesar do tabaco reduzir os níveis da síntese de óxido nítrico levando à perda da ereção e disfunção erétil, este efeito parece ser independente da nicotina [102]. Porém, a função erétil pode ser afetada por meio da vasoconstrição e com consequente diminuição do fluxo sanguíneo para os corpos cavernosos. Em modelos animais, a nicotina causa toxicidade testicular com degeneração das células germinativas e consequente comprometimento da espermatogénese [103]. Verifica-se uma redução da viabilidade do esperma com redução progressiva da motilidade dos espermatozóides [104]. Também em modelos animais verifica-se uma redução da testosterona, que resulta da diminuição de StAR [103].

Quanto ao sistema reprodutor feminino, a inibição da 21-hidroxilase provoca um estado hipoestrogénico com níveis excessivos de androgénios. Há um aumento dos níveis de FSH mas uma diminuição dos níveis de estrogénios e progesterona [103]. Em modelos animais, verificou-

se que a nicotina afeta adversamente o crescimento folicular por meio de um aumento da morte celular. Altera, assim, a produção de oócitos que pode causar infertilidade [105]. A redução do fluxo sanguíneo para os ovários e trompas também contribui para a infertilidade. A redução do fluxo sanguíneo para o útero compromete a implantação e desenvolvimento do embrião [106]. Em ratos, verificou-se que a nicotina afeta o transporte por meio do epitélio uterino [107].

Em modelos animais, a nicotina promove a neovascularização da retina, degenerescência macular associada à idade e o seu uso, associado a DM, parece acelerar a formação de cataratas [108,109].

Associa-se a duas condições gastrointestinais, a doença de refluxo gastro-esofágico (DRGE) e a DUP. A DRGE resulta do relaxamento do músculo liso que acarreta, por sua vez, um relaxamento do esfíncter esofágico inferior, da redução da peristalse esofágica distal, da motilidade gástrica e da redução do tônus do cólon [103]. A DUP está associada ao aumento da secreção de ácido gástrico e de pepsinogénio [110].

Por fim, a nicotina pode causar aumento da síntese das hormonas tiroideias, com consequente aumento do metabolismo. Aumenta a síntese de glicogénio e a lipólise com consequente redução do peso. Associa-se a um risco acrescido de DM ao causar destruição das células beta do pâncreas nos expostos à nicotina in útero e durante a lactação, insulinoresistência e síndrome metabólico [107, 111, 112, 113].

Conclusão

O consumo tabágico pode influenciar as manifestações clínicas da doença de *Behçet* isoladamente ou em associação a fatores genéticos (HLA-B51 e *GSTM1 null polymorphism*). Os fumadores com *Behçet* apresentam menor incidência de úlceras aftosas orais e genitais e a desabituação tabágica conduz ao seu aparecimento ou agravamento. Logo, o tabaco pode exercer um efeito benéfico sobre estas manifestações. Os fumadores com *Behçet* e *GSTM1 null polymorphism* apresentam um baixo risco de desenvolvimento de lesões pápulo-pustulosas e de artrite crônica. Todavia os efeitos negativos associados ao consumo tabágico encontram-se bem demonstrados em vários estudos, não estando os doentes com *Behçet* isentos destes malefícios. Cerca de 80% da morbidade e mortalidade associada ao tabagismo advém de DCV, neoplasias do pulmão e DPOC. Para além destes efeitos negativos, o tabaco, na doença de *Behçet*, pode aumentar o risco de outras manifestações sistêmicas, nomeadamente eritema nodoso, lesões oculares, cardiovasculares, gastrointestinais, neurológicas e vasculares. Assim sendo, o tabaco não constitui uma opção viável como agente terapêutico uma vez que os seus efeitos negativos se sobrepõem aos seus efeitos terapêuticos sobre as lesões mucocutâneas e articulares da doença de *Behçet*.

Dado que a nicotina induz a remissão das lesões das lesões mucocutâneas pode ser usada como alternativa ao tabagismo, particularmente em ex-fumadores com lesões mucocutâneas refratárias ao tratamento convencional. No entanto, a evidência existente é baseada em estudos que envolvem um pequeno número de doentes. Como tal, são necessários grandes estudos randomizados para avaliar o potencial benefício da nicotina na doença de *Behçet*.

Estudos realizados, principalmente em modelos animais, têm vindo a demonstrar vários efeitos adversos que podem advir de um consumo prolongado da nicotina (com repercussões nos sistemas cardiovascular, reprodutor, gastrointestinal, endócrino e metabólico e a nível ocular). Não sendo considerado um agente carcinogénico, pode atuar como um promotor tumoral. Assim, o seu uso necessita de regulação e deve ser supervisionado.

A nicotina atua por meio da ligação aos *Rachn*, suprimindo a inflamação cutânea e modulando a resposta imunitária local. Conduz à diferenciação, adesão e migração dos queratinócitos, o que, em associação à promoção da angiogénese, favorece a cicatrização e resolução das lesões. A descoberta de uma via anti-inflamatória da nicotina mediada pelos *Rachn* $\alpha 7$ pode levar ao desenvolvimento de agentes mais específicos dirigidos a estes subtipos de recetores, possibilitando alternativas terapêuticas mais seguras.

Por outro lado, há que considerar que a nicotina (um dos principais constituintes do tabaco) reduz os níveis de *stress* e ansiedade, amplamente reconhecidos como *triggers* frequentes das exacerbações da doença. Assim, os efeitos benéficos do tabaco e da nicotina podem também dever-se à redução dos níveis de *stress*, e consequente anulação deste *trigger*.

Por último, uma vez que a evidência sugere que o uso da nicotina não é totalmente seguro, existem alternativas ao seu uso. A *biochanin A* consiste numa proteína inibidora de tirosina cinase e que leva a uma redução significativa da libertação de il-6 e il-8 por parte dos queratinócitos e células endoteliais. Estas são responsáveis por fornecer os principais sinais pró-inflamatórios e recrutar as células responsáveis pelo dano nesta doença. A utilização desta molécula inibitória pode, assim, constituir uma alternativa mais segura para o tratamento das lesões mucocutâneas da doença de *Behçet*, carecendo, no entanto, de validação em estudos alargados e randomizados.

Bibliografia

1. Zeidan, M. J., Saadoun, D., Garrido, M., Klatzmann, D., Six, A., & Cacoub, P. (2016). Behçet's disease physiopathology: a contemporary review. *Autoimmunity Highlights*, 7(1), 1-12.
2. Kürtüncü, M., Tüzün, E., & Akman- Demir, G. (2016). Behçet's Disease and Nervous System Involvement. *Current treatment options in neurology*, 18(5), 1-12.
3. Grayson, P. C., Amudala, N. A., McAlear, C. A., Leduc, R. L., Shereff, D., Richesson, R., Fraenkel, L. & Merkel, P.A. (2014). Causal attributions about disease onset and relapse in patients with systemic vasculitis. *The Journal of rheumatology*, 41(5), 923-930
4. Jennette, J. C., Falk, R. J., Bacon, P. A., Basu, N., Cid, M. C., Ferrario, F., Flores- Suarez, L.F., Gross W.L., Guillevin, L. & Hagen, E.C. (2013). 2012 Revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis & Rheumatology*, 65(1), 1-11.
5. Woźniacka, A., Sysa-Jędrzejowska, A., Jurowski, P., Jabłkowski, M., & Kot, M. (2015). Morbus Behçet– a rare disease in Central Europe. *Archives of medical science: AMS*, 11(6), 1189.
6. Sakane, T., Takeno, M., Suzuki, N., & Inaba, G. (1999). Behçet's disease. *New England Journal of Medicine*, 341(17), 1284-1291.
7. Yazici, H., Fresko, I., & Yurdakul, S. (2007). Behçet's syndrome: disease manifestations, management, and advances in treatment. *Nature clinical practice Rheumatology*, 3(3), 148-155.
8. Yurdakul, S., Hamuryudan, V., & Yazici, H. (2004). Behçet syndrome. *Current opinion in rheumatology*, 16(1), 38-42.
9. Kokturk, A. (2011). Clinical and pathological manifestations with differential diagnosis in Behçet's disease. *Pathology research international*, 2012.
10. Khairallah, M., Accorinti, M., Muccioli, C., Kahloun, R., & Kempen, J. H. (2012). Epidemiology of Behçet disease. *Ocular immunology and inflammation*, 20(5), 324-335.
11. Karıncaoglu, Y., Borlu, M., Toker, S. C., Akman, A., Onder, M., Gunasti, S., Usta, A., Kandi, B., Durusoy, C. & Seyhan, M. (2008). Demographic and clinical properties of juvenile-onset Behçet's disease: A controlled multicenter study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(4), 579-584.
12. Alpsoy, E., Donmez, L., Onder, M., Gunasti, S., Usta, A., Karıncaoglu, Kandi, B., Buyukkara, S., Keseroglu, O. & Uzun, S (2007). Clinical features and natural course of Behçet's disease in 661 cases: a multicentre study. *British Journal of Dermatology*, 157(5), 901-906.
13. Ambrose, N. L., & Haskard, D. O. (2013). Differential diagnosis and management of Behçet syndrome. *Nature Reviews Rheumatology*, 9 (2), 79-89.

14. Uva, L., Miguel, D., Pinheiro, C., Filipe, P., & Pedro Freitas, J. (2013). Mucocutaneous manifestations of Behçet's disease. *Acta reumatologica portuguesa*, 38(2).
15. Touraine, R. (1987). Mucocutaneous involvement in Behcet's disease. *Journal des maladies vasculaires*, 13(3), 220-221.
16. Mat, C., Yurdakul, S., Sevim, A., Özyazgan, Y., & Tüzün, Y. (2013). Behçet's syndrome: Facts and controversies. *Clinics in dermatology*, 31(4), 352-361.
17. Rotondo, C., Lopalco, G., Iannone, F., Vitale, A., Talarico, R., Galeazzi, M., Lapadula, G. & Cantarini, L. (2015). Mucocutaneous involvement in Behçet's disease: how systemic treatment has changed in the last decades and future perspectives. *Mediators of inflammation*, 2015.
18. Senusi, A., Seoudi, N., Bergmeier, L. A., & Fortune, F. (2015). Genital ulcer severity score and genital health quality of life in Behçet's disease. *Orphanet journal of rare diseases*, 10(1), 117.
19. Macro, C., & Crowson, A. N. (1995). Cutaneous manifestations of Behçet's disease. *International journal of dermatology*, 34(3), 159-165.
20. Paovic, J., Paovic, P., & Sredovic, V. (2013). Behcet's disease: systemic and ocular manifestations. *BioMed research international*, 2013.
21. Paovic, J., Paovic, P., & Sredovic, V. (2013). Correlation between ocular manifestations and their complications as opposed to visual acuity and treatment in Behcet's disease. *Autoimmune diseases*, 2013.
22. Düzgün, N., & Ateş, A. (2003). Erosive arthritis in a patient with Behçet's disease. *Rheumatology international*, 23(5), 265-267.
23. Ebert, E. C. (2009). Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. *Digestive diseases and sciences*, 54(2), 201.
24. Demirelli, S., Degirmenci, H., Inci, S., & Arisoy, A. (2015). Cardiac manifestations in Behcet's disease. *Intractable & rare diseases research*, 4(2), 70-75.
25. Sezen, Y., Buyukatipoglu, H., Kucukdurmaz, Z., & Geyik, R. (2010). Cardiovascular involvement in Behçet's disease. *Clinical rheumatology*, 29(1), 7-12.
26. Emmi, G., Silvestri, E., Squatrito, D., D'Elia, M. M., Ciucciarelli, L., Prisco, D., & Emmi, L. (2014). Behçet's syndrome pathophysiology and potential therapeutic targets. *Internal and emergency medicine*, 9(3), 257-265.
27. Takeuchi, M., Kastner, D. L., & Remmers, E. F. (2015). The immunogenetics of Behcet's disease: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*, 64, 137-148.

28. Houman, M. H., & Bel, F. N. (2014). Pathophysiology of Behcet's disease. *La Revue de medecine interne/fondeé par la Societe nationale francaise de medecine interne*, 35 (2), 90-96.
29. Gül, A. (2015, July). Pathogenesis of Behçet's disease: autoinflammatory features and beyond. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 37, No. 4, pp. 413-418). Springer Berlin Heidelberg.
30. Mizuki, N., Inoko, H., Ando, H., Nakamura, S., Kashiwase, K., Akaza, T., & Ohno, S. (1993). Behçet's disease associated with one of the HLA-B51 subantigens, HLA-B* 5101. *American journal of ophthalmology*, 116(4), 406-409.
31. Akkurt, Z. M., Bozkurt, M., Uçmak, D., Yüksel, H., Uçak, H., Sula, B., & Arica, M. (2015). Serum cytokine levels in Behçet's disease. *Journal of clinical laboratory analysis*, 29(4), 317-320.
32. Türsen, Ü. (2011). Pathophysiology of the Behcet's Disease. *Pathology research international*, 2012.
33. Hasan, M. S., Bergmeier, L. A., Petrushkin, H., & Fortune, F. (2015). Gamma Delta ($\gamma\delta$) T Cells and Their Involvement in Behçet's Disease. *Journal of immunology research*, 2015.
34. Inanc, M. T., Kalay, N., Heyit, T., Ozdogru, I., Kaya, M. G., Dogan, A., & Yarlioglues, M. (2010). Effects of atorvastatin and lisinopril on endothelial dysfunction in patients with Behcet's disease. *Echocardiography*, 27(8), 997-1003.
35. Ozuguz, P., Karabulut, A. A., Tulmac, M., Kisa, U., Kocak, M., & Gunduz, O. (2014). Markers of endothelial dysfunction and evaluation of vascular reactivity tests in Behcet disease. *Angiology*, 65(10), 937-943.
36. Akkaya, H., Sahin, Ö., Borlu, M., Oguzhan, A., & Karakas, M. S. (2013). Effect of nebivolol on endothelial dysfunction in patients with Behçet's disease; a prospective single-arm controlled study/Behçet hastaliginda nebivololün endotel disfonksiyonuna etkisi; prospektif, tek grup kontrollü çalışma. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi: AKD*, 13(2), 115.
37. Ishchenko, D. A., Veltishchev, D. Y., Alekberova, Z. S., Lisitsyna, T. A., Kovalevskaya, O. B., & Seravina, O. F. (2014). EPA-1259—Stressful life events history and mental disorders in Behcet's disease. *European Psychiatry*, 29, 1.
38. Karlidag, R., Unal, S., Evereklioglu, C., Sipahi, B., Er, H., & Yologlu, S. (2003). Stressful life events, anxiety, depression and coping mechanisms in patients with Behçet's disease. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 17(6), 670-675

39. Nair, J. R., & Moots, R. J. (2015). Behçet's disease: Review of management. *Indian Journal of Rheumatology*, 10, S84-S94.
40. Saadoun, D., & Wechsler, B. (2012). Behçet's disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 7(1), 20.
41. Davatchi, F. (2011). Diagnosis/classification criteria for Behcet's disease. *Pathology research international*, 2012.
42. Davatchi, Fereydoun (2012) Diagnosis/ Classification Criteria for Behcet's Disease Pathology research international, Vol.2012, pp.607921.
43. Davatchi, F., Sadeghi Abdollahi, B., Chams-Davatchi, C., Shahram, F., Shams, H., Nadji, A., Faezi T., Akhlaghi M., Ghodsi Z., Mohtasham N., & Ashofteh, F. (2015). The saga of diagnostic/classification criteria in Behcet's disease. *International journal of rheumatic diseases*, 18(6), 594-605.
44. Xi, Z. X., Spiller, K., & Gardner, E. L. (2009). Mechanism-based medication development for the treatment of nicotine dependence. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(6), 723-739.
45. Guingab-Cagmat, J., Bauzo, R. M., Bruijnzeel, A. W., Wang, K. K., Gold, M. S., & Kobeissy, F. H. (2012). Methods in tobacco abuse: proteomic changes following second-hand smoke exposure. *Psychiatric Disorders: Methods and Protocols*, 329-348.
46. Jha P, Chaloupka FJ, Moore J, et al. Tobacco Addiction. In: Jamison DT, Breman JG, Measham AR, et al., editors. Disease Control Priorities in Developing Countries. 2nd edition. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank; 2006. Chapter 46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11741/> Co-published by Oxford University Press, New York.
47. Wu, J., & Sin, D. D. (2011). Improved patient outcome with smoking cessation: when is it too late, *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 6, 259-67.
48. Leon, M. E., Peruga, A., McNeill, A., Kralikova, E., Guha, N., Minozzi, S., Espina C. & Schüz, J. (2015). European Code against Cancer: tobacco and cancer. *Cancer epidemiology*, 39, S20-S33.
49. Willi, C., Bodenmann, P., Ghali, W. A., Faris, P. D., & Cornuz, J. (2007). Active smoking and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, 298(22), 2654-2664.
50. Parasher, G., & Eastwood, G. L. (2000). Smoking and peptic ulcer in the Helicobacter pylori era. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 12(8), 843-853.

51. Zee, K. Y. (2009). Smoking and periodontal disease. *Australian dental journal*, 54(s1), S44-S50.
52. Cornuz, J., Feskanich, D., Willett, W. C., & Colditz, G. A. (1999). Smoking, smoking cessation, and risk of hip fracture in women. *The American journal of medicine*, 106(3), 311-314.
53. Arcavi, L., & Benowitz, N. L. (2004). Cigarette smoking and infection. *Archives of internal medicine*, 164(20), 2206-2216.
54. MILLS, C. M. (1993). Smoking and skin disease. *International journal of dermatology*, 32(12), 864-865.
55. Wallach, E. E., Stillman, R. J., Rosenberg, M. J., & Sachs, B. P. (1986). Smoking and reproduction. *Fertility and sterility*, 46(4), 545-566.
56. Taylor Jr, D. H., Hasselblad, V., Henley, S. J., Thun, M. J., & Sloan, F. A. (2002). Benefits of smoking cessation for longevity. *American journal of public health*, 92(6), 990-996.
57. Gellert C., Schottker B., Brenner H. (2012). Smoking and all-cause mortality in older people – systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*, 172(11):837–44
58. Chang, L. C., Loh, E. W., Tsai, Y. W., Chiou, S. T., & Chen, L. K. (2014). Clinical benefits of smoking cessation in reducing all-cause and disease-specific mortality among older people in Taiwan: A 10-year nationwide retrospective cohort study. *European Geriatric Medicine*, 5(3), 149-154.
59. Sung, Y. T., Hsiao, C. T., Chang, I. J., Lin, Y. C., & Yueh, C. Y. (2016). Smoking Cessation Carries a Short-Term Rising Risk for Newly Diagnosed Diabetes Mellitus Independently of Weight Gain: A 6-Year Retrospective Cohort Study. *Journal of Diabetes Research*, 2016.
60. McLaughlin, I., Dani, J. A., & De Biasi, M. (2015). Nicotine withdrawal. In *The Neuropharmacology of Nicotine Dependence* (pp. 99-123). Springer International Publishing.
61. Filozof, C., Pinilla, F., & Fernández-Cruz, A. (2004). Smoking cessation and weight gain. *Obesity reviews*, 5(2), 95-103.
62. lassman, A. H., Covey, L. S., Stetner, F., & Rivelli, S. (2001). Smoking cessation and the course of major depression: a follow-up study. *The Lancet*, 357(9272), 1929-1932.
63. Bolam, B., West, R., & Gunnell, D. (2011). Does smoking cessation cause depression and anxiety? Findings from the ATTEMPT cohort. *Nicotine & Tobacco Research*, ntq244.
64. Ussher, M., West, R., Steptoe, A., & McEwen, A. (2003). Increase in common cold symptoms and mouth ulcers following smoking cessation. *Tobacco control*, 12(1), 86-88.

65. Hill, S. C., Stavrakoglou, A., & Coutts, I. R. (2010). Nicotine replacement therapy as a treatment for complex aphthosis. *Journal of Dermatological Treatment*, 21(5), 317-318.
66. Marakoğlu, K., Sezer, R. E., Toker, H. Ç., & Marakoğlu İ. (2007). The recurrent aphthous stomatitis frequency in the smoking cessation people. *Clinical oral investigations*, 11(2), 149-153.
67. Bookman, R. (1960). Relief of canker sores on resumption of cigarette smoking. *California medicine*, 93(4), 235.
68. Kaklamani, V. G., Markomichelakis, N., & Kaklamanis, P. G. (2002). Could nicotine be beneficial for Behcet's disease? *Clinical rheumatology*, 21(4), 341-342.
69. Soy, M., Erken, E., Konca, K., & Ozbek, S. (2000). Smoking and Behçet's disease. *Clinical rheumatology*, 19(6), 508-509.
70. Silveira, L. H., & McGrath, H. (1992). Smoking controls symptomatology of Behcet's-disease. *Arthritis Rheum*, 358 (Suppl):12S
71. Perricone, C., Versini, M., Ben-Ami, D., Gertel, S., Watad, A., Segel, M. j., Ceccarelli F., Conti F., Cantarini L., Bogdanos D.P.& Antonelli, A. (2016). Smoke and autoimmunity: the fire behind the disease. *Autoimmunity reviews*, 15(4), 354-374.
72. Ciancio, G., Colina, M., La Corte, R., Monaco, A. L., De Leonardis, F., Trotta, F., & Govoni, M. (2009). Nicotine-patch therapy on mucocutaneous lesions of Behçet's disease: a case series. *Rheumatology*, kep401.
73. Tuna, S., Alan, S., & Turkoglu, E. B. (2015). Effects of smoking and HLA-B51 on clinical manifestations in Behcet's disease: retrospective analysis of 209 patients in a Turkish population. *Turkish Journal of Rheumatology*, 30(4), 319-326.
74. Özer, H. T., Günesaçar, R., Dinkçi, S., Özbalkan, Z., Yildiz, F., & Erken, E. (2011). The impact of smoking on clinical features of Behcet's disease patients with glutathione S-transferase polymorphisms. *Clinical and experimental rheumatology*, 30(3 Suppl 72), S14-7.
75. Yuen, B. G., Tham, V. M., Browne, E. N., Weinrib, R., Borkar, D. S., Parker, J. V., Uchida A., Aleli C., Vinoya, BS., Nisha R.& Acharya, N. R. (2015). Association between smoking and uveitis: results from the Pacific Ocular Inflammation Study. *Ophthalmology*, 122(6), 1257-1261.
76. Lin, P., Loh, A. R., Margolis, T. P., & Acharya, N. R. (2010). Cigarette smoking as a risk factor for uveitis. *Ophthalmology*, 117(3), 585-590.

77. Bilgin, A. B., Turkoglu, E. B., Ilhan, H. D., Unal, M., & Apaydin, K. C. (2015). Is smoking a risk factor in ocular Behçet disease? *Ocular immunology and inflammation*, 23(4), 283-286.
78. Kolar, P. (2014). Risk factors for central and branch retinal vein occlusion: a meta-analysis of published clinical data. *Journal of ophthalmology*, 2014.
79. Tanaka, T., Momi, H., Horinouti, S., Kawabata, S., & Umehara, F. (1999). A case of neuro-Behcet's disease with transient cerebral ischemia evoked by smoking. *Clinical neurology*, 39(5), 546-550.
80. Pandey, A., Garg, J., Krishnamoorthy, P., Palaniswamy, C., Doshi, J., Lanier, G., & Ahmad, H. (2014). Predictors of coronary artery disease in patients with Behçet's disease. *Cardiology*, 129(4), 203-206.
81. Lee, S. S., Choi, C. B., Lee, E. K., Park, S. H., Choe, J. Y., & Kim, S. K. (2008). The association between smoking and clinical manifestations in patients with Behcet's disease. *Korean Journal of Medicine*, 75(2), 202-209.
82. Gaber, W., Hassen, A. S., Abouleyoun, I. I., & Nawito, Z. O. (2015). Impact of smoking on disease outcome in ankylosing spondylitis patients. *The Egyptian Rheumatologist*, 37(4), 185-189.
83. Ingram, J. R. (2009). Nicotine: does it have a role in the treatment of skin disease? *Postgraduate medical journal*, 85(1002), 196-201.
84. Benowitz, N. L. (2009). Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 49, 57-71.
85. Macklin KD, Maus ADJ, Pereira EFR, Albuquerque EX, Conti-Fine BM (1998) Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 287:435–9
86. Kurzen H, Schallreuter KU (2004) Novel aspects in cutaneous biology of acetylcholine synthesis and acetylcholine receptors. *Exp Dermatol* 13(Suppl):27–30
87. Borovikova, L. V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G. I., Watkins, L. R., Wang H., Abumrad N., Eaton J.W. & Tracey, K. J. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405(6785), 458-462.
88. Wang, H., Yu, M., Ochani, M., Amella, C. A., Tanovic, M., Susarla, S., Li J.H., Wang H., Ulloa L., Al-Abed Y., Czura C.J. & Al-Abed, Y. (2003). Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, 421(6921), 384-388.

89. Kalayciyan, A., Orawa, H., Fimmel, S., Perschel, F. H., González, J. B., Fitzner, R. G., Orfanos C.E. & Zouboulis, C. C. (2007). Nicotine and biochanin A, but not cigarette smoke, induce anti-inflammatory effects on keratinocytes and endothelial cells in patients with Behcet's disease. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(1), 81-89.
90. Arnson, Y., Shoenfeld, Y., & Amital, H. (2010). Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *Journal of autoimmunity*, 34(3), J258-J265.
91. Grando, S. A., Horton, R. M., Pereira, E. F., Diethelm-Okita, B. M., George, P. M., Albuquerque, E. X., & Conti-Fine, B. M. (1995). A nicotinic acetylcholine receptor regulating cell adhesion and motility is expressed in human keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 105(6), 774-781.
92. Grando, S. A., Horton, R. M., Mauro, T. M., Kist, D. A., Lee, T. X., & Dahl, M. V. (1996). Activation of keratinocyte nicotinic cholinergic receptors stimulates calcium influx and enhances cell differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 107(3), 412-418.
93. Moore, D., Aveyard, P., Connock, M., Wang, D., Fry-Smith, A., & Barton, P. (2009). Effectiveness and safety of nicotine replacement therapy assisted reduction to stop smoking: systematic review and meta-analysis. *Bmj*, 338, b1024.
94. Benowitz, N. L. (2010). Nicotine addiction. *New England Journal of Medicine*, 362(24), 2295-2303.
95. Joseph, A. M., Norman, S. M., Ferry, L. H., Prochazka, A. V., Westman, E. C., Steele, B. G. & McGovern, P. G. (1996). The safety of transdermal nicotine as an aid to smoking cessation in patients with cardiac disease. *N Engl J Med*, 1996(335), 1792-1798.
96. Benowitz, N. L., & Gourlay, S. G. (1997). Cardiovascular toxicity of nicotine: implications for nicotine replacement therapy. *Journal of the American College of Cardiology*, 29(7), 1422-1431.
97. Meine, T. J., Patel, M. R., Washam, J. B., Pappas, P. A., & Jollis, J. G. (2005). Safety and effectiveness of transdermal nicotine patch in smokers admitted with acute coronary syndromes. *The American journal of cardiology*, 95(8), 976-978.
98. Heusch, W. L., & Maneckjee, R. (1998). Signalling pathways involved in nicotine regulation of apoptosis of human lung cancer cells. *Carcinogenesis*, 19(4), 551-556.
99. Stepanov, I., Carmella, S. G., Briggs, A., Hertsgaard, L., Lindgren, B., Hatsukami, D., & Hecht, S. S. (2009). Presence of the carcinogen N'-nitrosonornicotine in the urine of some users of oral nicotine replacement therapy products. *Cancer research*, 69(21), 8236-8240.

100. Hoffmann, D., & Adams, J. D. (1981). Carcinogenic tobacco-specific N-nitrosamines in snuff and in the saliva of snuff dippers.
101. Mishra, A., Chaturvedi, P., Datta, S., Sinukumar, S., Joshi, P., & Garg, A. (2015). Harmful effects of nicotine. *Indian journal of medical and paediatric oncology: official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology*, 36(1), 24.
102. Xie, Y., Garban, H., Ng, C., Rajfer, J., & Gonzalez-Cadavid, N. F. (1997). Effect of long-term passive smoking on erectile function and penile nitric oxide synthase in the rat. *The Journal of urology*, 157(3), 1121-1126.
103. Oyeyipo, I. P., Raji, Y., & Bolarinwa, A. F. (2013). Nicotine alters male reproductive hormones in male albino rats: The role of cessation. *Journal of human reproductive sciences*, 6(1), 40.
104. Oyeyipo, I. P., Raji, Y., Emikpe, B. O., & Bolarinwa, A. F. (2011). Effects of nicotine on sperm characteristics and fertility profile in adult male rats: a possible role of cessation. *Journal of Reproduction & Infertility*, 12(3), 201.
105. Bordel, R., Laschke, M. W., Menger, M. D., & Vollmar, B. (2006). Nicotine does not affect vascularization but inhibits growth of freely transplanted ovarian follicles by inducing granulosa cell apoptosis. *Human Reproduction*, 21(3), 610-617.
106. Hammer, R. E., Mitchell, J. A., & Goldman, H. (1981). Effects of nicotine on conceptus cell proliferation and oviductal/ uterine blood flow in the rat. In *Cellular and Molecular Aspects of Implantation* (pp. 439-442). Springer US.
107. Jin, Z., & Roomans, G. M. (1997). Effects of nicotine on the uterine epithelium studied by X-ray microanalysis. *Journal of submicroscopic cytology and pathology*, 29(2), 179-186.
108. Suner, I. J., Espinosa-Heidmann, D. G., Marin-Castano, M. E., Hernandez, E. P., Pereira-Simon, S., & Cousins, S. W. (2004). Nicotine increases size and severity of experimental choroidal neovascularization. *Investigative ophthalmology & visual science*, 45(1), 311-317.
109. Tirgan, N., Kulp, G. A., Gupta, P., Boretsky, A., Wiraszka, T. A., Godley, B., Tilton R.G. & Motamedi, M. (2012). Nicotine exposure exacerbates development of cataracts in a type 1 diabetic rat model. *Experimental diabetes research*, 2012.
110. Parasher, G., & Eastwood, G. L. (2000). Smoking and peptic ulcer in the *Helicobacter pylori* era. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 12(8), 843-853.
111. Tweed, J. O., Hsia, S. H., Lutfy, K., & Friedman, T. C. (2012). The endocrine effects of nicotine and cigarette smoke. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23(7), 334-342.

112. Bruin, J. E., Kellenberger, L. D., Gerstein, H. C., Morrison, K. M., & Holloway, A. C. (2007). Fetal and neonatal nicotine exposure and postnatal glucose homeostasis: identifying critical windows of exposure. *Journal of Endocrinology*, 194(1), 171-178.
113. Somm, E., Schwitzgebel, V. M., Vauthay, D. M., Camm, E. J., Chen, C. Y., Giacobino, J. P., Sizonenko S.V. Aubert M.L.& Huppi, P. S. (2008). Prenatal nicotine exposure alters early pancreatic islet and adipose tissue development with consequences on the control of body weight and glucose metabolism later in life. *Endocrinology*, 149(12), 6289-6299.